

新疆地区老年房颤患者华法林稳定剂量预测模型的验证

贾莉*, 马勤 (新疆维吾尔自治区人民医院, 830001,
新疆伊犁哈萨克自治州友谊医院, 8350000)

目的:比较 6 种华法林剂量预测模型对新疆 60 岁以上人群预测的准确性。**方法:**纳入因房颤、静脉栓塞疾病、机械瓣膜置换术后服用华法林并已达标的老年患者, 检测重要的华法林药物代谢基因 CYP2C9 及 VKORC1, 收集患者的临床信息, 采用预测百分比及绝对误差均值法评价各模型预测的准确性。**结果:**在入组的 61 例患者中, CYP2C9*1/*1、CYP2C9*1/*3 和 CYP2C9*3/*3 基因型分别占 88.52%、8.2%和 3.28%。VKORC1-1639 AA、AG、GG 基因型分别占 68.85%、22.95%、8.20%; *1/*1 合并 GG 达标剂量最高 6.51 ± 0.96 , *1/*1 合并 AG 达标剂量次之 4.26 ± 1.14 , *1/*3 合并 GG 达标剂量稍高于*1/*1 合并 AA, 两者均高于*1/*3 合并 AA 达标剂量 2.07 ± 1.32 ; *1/*3 合并 AG、*3/*3 合并 AA、*3/*3 合并 AG 达标剂量均小于 1mg/d。预测效果较好的模型包括 IWPC(57.38%)、指南模型 (65.57%), 绝对误差均值分别为 0.7 (95% CI: 0.56-0.84)、0.87 (95% CI: 0.56-1.89)。**结论:**基于 CYP2C9 及 VKORC1 基因的多态性对新疆少数民族患者的华法林稳定剂量存在影响。IWPC 模型和指南模型更适用于新疆 60 岁以上人群。

关键词: 华法林, 老年房颤, 稳定剂量, 模型验证;

心房颤动 (AF) 是老年患者最常见的心血管疾病之一, 房颤并发左心房附壁血栓易引起动脉栓塞, 其中脑栓塞最常见, 是致残和致死的重要原因。在血栓栓塞风险较高的患者中, 应用抗凝药物可明显减少血栓栓塞事件。新型口服抗凝药价格昂贵, 因此, 华法林仍是大多数中国病人的选择。华法林疗效确切, 历史悠久, 是临床最经典的口服抗凝药物, 可使房颤患者发生卒中的相对危险度降低 64%, 每年发生卒中的绝对危险度降低 2.7%, 且在一级与二级预防中获益幅度相同^[1]。

华法林治疗窗窄, 需要通过频繁监测国际标准化比值 (INR) 来调整药物剂量。国外大型临床研究证实当 INR 在 2.0-3.0 之间时, 华法林可有效预防血栓而又无明显增加出血风险^[2-3]。华法林抗凝治疗的稳定性常用 INR 在治疗目标范围内的时间百分比 (TTR) 表示, 有研究证明, 当 TTR>65%时, 华法林的抗凝疗效较好^[4]。流行病学发现, 中国服用华法林患者中, INR<2.0 者多见, 平均抗凝强度亦低于非亚洲人群^[5]。近年研究发现, 维生素 K 环氧化物还原酶复合体

亚基 1 (vitamin K epoxide reductase complex 1, VKORC1) 和细胞色素 P450 2C9 (CYP2C9) 基因多态性与华法林稳定剂量的个体差异密切相关^[6]。

随着对华法林基因多态性的深入研究, 国内外临床上已推导出数个预测华法林稳定剂量的模型公式。这些预测模型多是结合了遗传因素(主要为 VKORC1-1639A>G, CYP2C9*2/*3) 和非遗传因素(包括身高、体重、年龄、吸烟、喝酒、合并用药、合并疾病等), 其国际华法林药物基因组学联盟(international warfarin pharmacogenetics consortium, IWPC)模型^[7]和 Gage^[8]构建的剂量预测模型是目前所有模型中最权威的。

目前较权威的预测模型, 其纳入的人群多是以欧美人群为主, 专门针对中国人群构建的预测模型, 样本量较小、纳入的影响因素少, 具有一定局限性。此外, 房颤患者多为老年人, 而目前的拟合模型其纳入人群多为 18-60 岁, 这些预测模型在 60 岁以上老年人群是否适用, 尚不得而知。因此, 本研究收集了新疆维吾尔自治区人民医院使用华法林且抗凝剂量达标的患者的临床资料, 验证并评价 6 种国内外华法林预测模型对 60 岁以上人群剂量预测的准确性, 以期对华法林的临床合理应用提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象: 选取 2018 年 10 月至 2020 年 10 月我院因心房颤动、静脉栓塞症、人工瓣膜置换术后要长期口服华法林抗凝治疗住院患者 61 例, 纳入标准 ≥ 60 岁, 检测 CYP2C9/VKORC1 基因型, 根据性别、年龄、身高、基因型、是否有合并用药用及是否合用胺碘酮等因素, 连续随访至 INR 稳定在 2.0~3.0 之间, 人工瓣膜 INR1.5-2.5 视为达到华法林达标治疗剂量。

1.2 血样采集与基因型分析

抽取受试者外周静脉血 2 ml 置乙二胺四乙酸二钠(EDTA - 2Na)抗凝管中。应用 DNA 提取试剂盒(上海百傲科技有限公司)提取 DNA。应用 CYP2C9*3(1075G>T, rs1057910)和 VKORC1(1639G>A, rs9923231)基因多态性检测试剂盒(上海百傲科技有限公司)检测突变等位基因。

1.3 预测模型筛选

检索万方、CNKI、Pubmed 等数据库, 关键词为: 华法林、剂量预测模型。共检索到国内外关于华法林稳定剂量预测模型研究 8 篇, 其中剔除我院暂未开展的基因位点 CYP4F2、CYP2C9*2 基因且包含特殊函数运算的模型数据 2 篇(阜华模型、GAGE 模型), 最终选定 6 个华法林剂量预测模型, 分别为国外建立模型包括国际华法林药物基因组学协会(IWPC) ^[7]; Ohno 构建的日本人群

模型^[9]；国内建立的模型包括中国国家卫生健康委员会发布的《药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)》(2015)中推荐的华法林起始剂量计算公式(简称指南模型)^[10]、湘雅 TAN^[11]、MIAO^[12]、昆明汉族^[13]构建的中国人群模型。利用 EXCLE 编辑华法林模型运算公式。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件，计量资料均以均数±标准差、计数资料以频数表示。计量资料采用 t 检验，非正态计量资料用中位数(四分位数间距)表示。采用 χ^2 检验判断 CYP2C9 及 VKORC1 基因型频率是否符合 Hardy-Weinberg 平衡，模型数据进行 Pearson 相关分析，平均绝对误差 (MAE) 比较模型预测剂量与稳定治疗剂量间的相关性。

2 结果

2.1 一般资料

收集符合样本资料患者 61 人（基本资料见表 1），其中男性 31 人（50.8%），女性 30 人（49.2%），平均年龄（67.69±8.10）岁，平均身高（166.02±8.63）厘米，平均体重（71.62±12.8）千克，根据《华法林抗凝治疗的中国专家共识》^[14]遴选出与华林有相互作用药物种类例如：胺碘酮、非甾体抗炎药、辛伐他汀、喹诺酮类抗生素等，其中没有合并用药 24 例（39.34%），合并 1 种 23 例（37.70%），合并 2 中 11 例（18.03%），合并 3 种 2 例（3.28%），合并 4 种 1 例（1.64%）。

表 1. 患者基本资料

变量	n=61	
达标剂量	MIN-MAX	0.75-7.08
	Mean+SD	3.42±1.31
性别		
男性	31	50.80%
女性	30	49.20%
民族		
汉回	37	60.7%
维哈	24	39.3%
身高	MIN-MAX	148-186
	Mean+SD	166.02±8.63
体重	MIN-MAX	45-120
	Mean+SD	71.62±12.8
年龄	MIN-MAX	60-85

合并用药种类数	Mean±SD	67.69±8.10
	(与华法林有相互作用的药物)	
0	24	39.34%
1	23	37.70%
2	11	18.03%
3	2	3.28%
4	1	1.64%

2.2 基因型分布及华法林达标剂量分布

61 例样本基因型分布经检测符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律，组间差异无统计学意义($P > 0.05$)，见表 2。CYP2C9*1/*1 合并 VKORC1AA 患者人数占比 63.9% (39/61)，CYP2C9*1/*1 合并 VKORC1AG 患者人数占比 19.7% (12/61)，CYP2C9*1/*1 合并 VKORC1GG 患者人数占比 4.9% (3/61)，CYP2C9*1/*3 合并 VKORC1AA 及 CYP2C9*1/*3 合并 VKORC1GG 患者人数占比均为 3.3% (2/61)，见表 3。

表 2. CYP2C9 与 VKORC1 基因型分布

基因	基因型	例数	频率	χ^2	P
CYP2C9				2.343	0.31
	*1/*1	54	88.52%		
	*1/*3	5	8.20%		
	*3/*3	2	3.28%		
VKORC1				2.07	0.35
	AA	42	68.85%		
	GA	14	22.95%		
	GG	5	8.20%		

表 3. 不同基因型组合的华法林达标剂量差异

CYP2C9 和 VKORC1 基因型	例数	华法林达标剂量 (mg/d)
*1/*1 合并 AA	39	3.13±0.83
*1/*1 合并 AG	12	4.26±1.14
*1/*1 合并 GG	3	6.51±0.96
*1/*3 合并 AA	2	2.07±1.32
*1/*3 合并 AG	1	0.98
*1/*3 合并 GG	2	3.28±1.45
*3/*3 合并 AA	1	0.75
*3/*3 合并 AG	1	0.98

2.3 预测结果

6种华法林模型预测剂量与达标剂量相关性，IWPC预测剂量、指南预测剂量、昆明人预测剂量与达标剂量的呈强相关性，分别为0.717、0.692、0.689，TAN预测剂量、Ohno预测剂量、Miao预测剂量与达标剂量的呈中等相关性0.472、0.543、0.57。见表4

表4. 华法林模型预测剂量与达标剂量相关性

	达标剂量	IWPC	指南	TAN	Ohno	Miao	昆明人
达标剂量	1						
IWPC 预测剂量	0.717*	1					
指南预测剂量	0.692*	0.716*	1				
TAN 预测剂量	0.472*	0.562*	0.646*	1			
Ohno 预测剂量	0.543*	0.721*	0.768*	0.637*	1		
Miao 预测剂量	0.570*	0.713*	0.842*	0.682*	0.978*	1	
昆明汉族预测剂量	0.689*	0.778*	0.732*	0.718*	0.568*	0.611*	1

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

绝对误差均值 (mean absolute deviation, MAE) = 预测剂量 - 实际剂量的均值，及预测百分比 = ABS (实际剂量 - 模型预测剂量) / 实际剂量，根据预测百分比的不同将分为理想预测剂量 (即 < 20%)、预测剂量偏低 (即 预测剂量 < 实际剂量的 20%)、预测剂量偏高 (即 预测剂量 > 实际剂量的 20%)，计算各组患者的百分比，在 IWPC 模型中理想预测剂量的患者比例占 57.38%，指南模型占 65.57%，TAN 模型占 36.07%，Ohno 模型占 32.79%，MIAO 模型占 21.31%，昆明模型占 45.90%，IWPC 模型绝对误差均值最小 0.7，MIAO 模型绝对误差均值最大 1.22。见表 5

表.5 各模型预测的比较

模型	低估(%)	理想(%)	高估(%)	P 值	MAE (95%CI)
IWPC	11 18.03%	35 57.38%	15 24.59%	0.00	0.7±0.56 0.56-0.84

指南	5	8.20%	40	65.57%	16	26.23%	0.05	0.87±1.23	0.56-1.89
TAN	20	32.79%	22	36.07%	19	31.15%	0.00	0.95±0.87	0.73-1.17
Ohno	33	54.10%	20	32.79%	8	13.11%	0.00	0.93±0.70	0.75-1.11
MIAO	42	68.85%	13	21.31%	6	9.84%	0.00	1.22±0.77	1.03-1.43
昆明	24	39.34%	28	45.90%	9	14.75%	0.00	0.91±0.77	0.71-1.11

P 值<0.001, P 值<0.05

3 讨论

随着中国人口老龄化发展, 高龄人群的用药安全性、依从性成为临床获益的关键, 新疆地区许多 60 岁以上患者未得到有效的抗凝治疗, 使这一区域老年患者华法林个体化用药成为关注的焦点。临床治疗过程中华法林的血药浓度与疗效存在明显的种族差异和个体差异, 因治疗窗窄, 出血和栓塞风险难以把控, 且药物易受合并疾病、饮食、药物等多种因素影响抗凝治疗。近年来对基因型的研究主要偏向 CYP2C9 基因和 VKORC1 基因。在体内华法林-s 异构体主要通过 CYP2C9 代谢, CYP2C9 常见的单核苷酸多态性是 CYP2C9*2 和 CYP2C9*3, 突变后该酶活性分别比野生型下降 20%和 80%。携带 CYP2C9 突变基因的患者所需华法林剂量比野生型个体明显减少^[15]。VKORC1 是催化氧化型维生素 K 向还原型维生素 K 转化的关键酶。VKORC1-1639G>A 突变基因分布频率存在显著的种族差异, 在亚洲人、高加索人和黑种人群中 VKORC1-1639G>A 突变频率分别为 91.17%、38.79%和 10.8%^[16]。因而可知, 不同种族间 VKORC1-1639G>A 突变基因分布频率与不同种族间华法林剂量差异性具有良好的相关性。

本研究人群包含汉族、回族、维吾尔族、哈萨克族, 结果显示 CYP2C9 基因型以*1*1 最为多见, *3/3 基因型频率较低。CYP2C9*3/3 基因突变可以使华法林的代谢降低, 在体内蓄积从而导致抗凝作用的加强, 导致严重的出血。张艳^[17]等人的研究新疆维吾尔族和哈萨克族个体药物代谢普遍比亚洲人群慢, 但快于欧美人群。VKORC1 基因而言, 中国汉族人群华法林剂量普遍偏低, 而欧美人群相对偏高, 维吾尔族和哈萨克族处于两者之间。本次研究通过比较不同基因型组合的华法林达标剂量差异, *1*1 合并 GG 达标剂量最高 6.51±0.96, *1*1 合并 AG 达标剂量次之 4.26±1.14, *1*3 合并 GG 达标剂量稍高于*1*1 合并 AA, 两者均高于*1*3 合并 AA 达标剂量 2.07±1.32; *1*3 合并 AG、*3*3 合并 AA、*3*3 合并 AG 达标剂量均小于 1mg/d。

近年来国内外学者根据影响华法林的因素陆续建立各种华法林稳态剂量预测模型。国际华法林组织（IWPC）整合 4043 名来自不同种族和国家患者资料构建的模型为迄今构建样本量最大的模型，纳入因素包含年龄、身高、体重、CYP2C9*2/*3、VKORC1639G>A、种族、酶诱导剂、胺碘酮。指南模型是基于中国人群的华法林的用药剂量计算，纳入因素包含年龄、CYP2C9*2/*3、VKORC1639G>A、体表面积、主动脉瓣膜置换术、性别、吸烟史、房颤、阿司匹林、胺碘酮；湘雅 TAN 模型纳入因素包括年龄、CYP2C9*2/*3、VKORC1639G>A、体表面积吸烟史、合并使用 INR 增高的用药数、高血压、卒中，本研究中 IWPC 模型和指南模型理想预测剂量占比分别为 57.38%和 65.57%，绝对误差均值分别为 0.7 mg 和 0.87 mg。TAN 模型理想预测剂量占比 36.07%，绝对误差均值为 0.95mg，其余模型纳入因素包括 CYP2C9*2/*3、VKORC1639G>A、年龄、体表面积（身高、体重）且理想预测剂量不高，华法林预测剂量被低估的占比较多，绝对误差均值接近 1mg。IWPC 及指南预测剂量模型与达标剂量最为接近，优于其他模型。本次研究人群除了汉族回族，还包含维吾尔族与哈萨克族，而 TAN 模型、Ohno 模型、MIAO 模型、昆明模型对新疆高龄的多民族抗凝患者的适宜性较差。

目前综合年龄、体重指数及基因因素的华法林剂量模型的研究较多,但是大多主要针对单中心病患开展,而样本的地域、种族差异、饮食习惯、合并用药情况等均会对预测结果产生影响且不易把控。因此达标剂量预测模型对于患者个体化精确剂量的预测能力目前仍略差。近年来对新疆维吾尔族、哈萨克族患者的基因多态性分布研究普遍，验证基因指导新疆维吾尔族患者华法林的预测模型样本量较少，针对哈萨克族的华法林预测模型更是空白^[18-20]。因此本次研究未纳入针对新疆维吾尔族所建立的华法林预测模型。综上所述，除了探讨 CYP2C9 和 VKORC1 基因对华法林达标剂量和抗凝治疗效果影响的同时，将更多的华法林剂量个体差异有关的基因引入到华法林预测模型，结合人口学特征和临床资料等因素，以增加预测模型的准确性，建立新疆老年抗凝患者华法林个体剂量预测模型，以更精确地评估各民族患者的用药剂量，缩短华法林剂量调整时间，降低治疗初始阶段因华法林过量或不足而导致的严重出血或卒中风险。

参考文献：

- [1]Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis:antithrombotic therapy to prevent stroke in patient who have nonvalvular atrial fibrillation[J]. Ann Intern Med, 2007,146(12):857
- [2]Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation[J]. Ann Intern Med, 2007, 146 (12) : 857
- [3]Olesen JB, Lip GY, Lindhardsen J, et al. Risks of thromboembolism and bleeding with thromboprophylaxis in patients with atrial fibrillation: A net clinical benefit analysis using a Real world nationwide cohort study[J]. Thromb Haemost, 2011,106 (4) : 739
- [4]Gallagher AM, Setakis E, Plumb JM, et al. Risks of stroke and mortality associated with suboptimal anticoagulation in atrial fibrillation patients[J]. Thromb Haemost, 2011,106 (5) : 968
- [5] 张澍, 杨艳敏, 黄从新等.中国心房颤动患者卒中预防规范(2017) [J]中华心律失常学杂志 2018,1 (22) : 17
- [6]Johnson Julie A. Warfarin pharmacogenetics: a rising tide for its clinical value.[J]. Circulation,2012,12516:.
- [7]Klein T E,Altman R B,Eriksson N,Gage B F,Kimmel S E,Lee M-T M,Limdi N A,Page D,Roden D M,Wagner M J,Caldwell M D,Johnson J A. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data.[J]. The New England journal of medicine,2009,3608:.
- [8]Gage Brian F,Eby Charles,Milligan Paul E,Banet Gerald A,Duncan Jill R,McLeod Howard L. Use of pharmacogenetics and clinical factors to predict the maintenance dose of warfarin.[J]. Thrombosis and haemostasis,2004,911:.
- [9]Ohno Masako,Yamamoto Akiko,Ono Ayumu,Miura Genta,Funamoto Masanobu,Takemoto Yasuhiko,Otsu Kinya,Kouno Yasushi,Tanabe Tomoko,Masunaga Yuiko,Nonen Shinpei,Fujio Yasushi,Azuma Junichi. Influence of clinical and genetic factors on warfarin dose requirements among Japanese patients.[J]. European journal of clinical pharmacology,2009,6511:.
- [10]中国国家卫生健康委员会发布的《药物代谢酶和药物作用靶点基因检测技术指南(试行)》(2015)中推荐的华法林起始剂量计算公式(简称指南模型)
- [11]Tan S L,Li Z,Song G B,Liu L M,Zhang W,Peng J,Zhang T,Jia F F,Zhou G,Zhou H H,Zhou X M. Development and comparison of a new personalized warfarin stable dose prediction algorithm in Chinese patients undergoing heart valve replacement.[J]. Die Pharmazie,2012,6711:.
- [12]Miao Liyan,Yang Jian,Huang Chenrong,Shen Zhenya. Contribution of age, body weight, and CYP2C9 and VKORC1 genotype to the anticoagulant response to warfarin: proposal for a new dosing regimen in Chinese patients.[J]. European journal of clinical pharmacology,2007,6312:.
- [13]肖成,胡莹,王玉明,徐梦云,李婉澜,柳杰. 昆明汉族人群 VKORC1、CYP2C9 基因多态性对华法林稳态剂量的影响及预测剂量模型的建立[J]. 山东医药,2018,10:21-24.
- [14]孙艺红. 华法林抗凝治疗的中国专家共识[J]. 中华内科杂志,2013,01:76-82.
- [15]彭娟,谭胜蓝,周宏灏,李智.华法林药物基因组学和个体化用药[J].中国药理学通报, 2013,29(2):169-172.
- [16]Limdi Nita A,Wadelius Mia,Cavallari Larisa,Eriksson Niclas,Crawford Dana C,Lee Ming-Ta M,Chen Chien-Hsiun,Motsinger-Reif Alison,Sagreiya Hersh,Liu Nianjun,Wu Alan H B,Gage Brian F,Jorgensen Andrea,Pirmohamed Munir,Shin Jae-Gook,Suarez-Kurtz Guilherme,Kimmel Stephen E,Johnson Julie A,Klein Teri E,Wagner Michael J. Warfarin pharmacogenetics: a single VKORC1 polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups.[J]. Blood,2010,11518:.
- [17]张艳,赵军,凯塞尔·吾甫尔,古丽再努尔·吐尔逊,丁仰宏,袁圆,王建华. 新疆维吾尔族和哈萨克族健康人群 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性研究[J]. 中国药师,2013,12:1759-1763.

- [18]杜宇奎,唐和年,张总刚. 新疆维吾尔族健康人群维生素 K 环氧化物还原酶亚单位 1 启动子区 1639A/G 基因多态性研究[J]. 新疆医学,2007,01:14-16.
- [19]安琳娜,曹红,林筱琦. 新疆维吾尔族患者 CYP2C9 和 VKORC1 基因多态性分布及不同种族间的比较[J]. 中国药房,2015,24:3332-3334
- [20]范芳芳,姚莉,赵生俊,郑丽丽,努尔子亚·曼那洪,胡兰,姜倩,聂继红. 基因指导新疆维吾尔族患者华法林日稳定剂量预测模型的建立及验证[J]. 中国医院药学杂志,2016,23:2096-2101.